Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 5, Dec- Jan 2021, p. 875-887

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۰، ص.۸۸۷ -۸۷۵

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر کارواکرول بر ویژگی‌های ویژگی فیزیکی، مکانیکی و میکروبی هیدروژل زیستی بر پایه آرد فیلتر حاصل از فرایند آسیابانی گندم

مریم پیروموسوی[۱]- محبوبه کشیری[۲*]- یحیی مقصودلو[۳]- مرتضی خمیری[۴]- مهران اعلمی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱

چکیده

هیدروژل‌ها شبکه سه‌بعدی زنجیره پلیمری با توانایی جذب زیاد آب هستند که جهت کاهش استفاده از منابع فسیلی مورد توجه قرار گرفته است. آرد فیلتر گندم محصولی اجتناب‌ناپذیر از طبقه بندی آرد تحت سیستم پنوماتیک در صنعت مدرن آسیابانی گندم می‌باشد. از عیوب فیلم‌های هیدروژلی در صنایع بسته‌بندی می‌توان به شکنندگی، نفوذپذیری بالا نسبت به آب و مقاومت کم در برابر آب اشاره کرد. از این حیث هدف این پژوهش بررسی اثر غلظت کارواکرول (۵ و ۱۰ درصد نسبت به وزن پلیمر) بر ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی، ممانعت‌کنندگی، زاویه تماس سطحی و ضدمیکروبی فیلم هیدروژلی بر پایه آرد فیلتر بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد با افزایش غلظت کارواکرول در محلول فیلم‌سازی، ضخامت و مقاومت به کشش افزایش و رطوبت، حلالیت در آب و کشش‌پذیری فیلم‌های هیدروژلی کاهش یافت. منافذ ریز متعددی در سطح فیلم های حاوی کارواکرول با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد تأیید قرار گرفت. بیشترین نفوذپذیری نسبت به بخار آب $^{-۱۰}$۱۰× ۳۲/ ۱ گرم مترثانیه پاسکال) و کمترین حلالیت در آب (۰/۶۳±۳۷/۰۱ درصد) در فیلم هیدروژلی حاوی۱۰ درصد کارواکرول مشاهده شد. ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی بخارهای کارواکرول فیلم هیدروژلی در محیط جامد نشان داد که اثربخشی بخار این ترکیب علیه *آسپرژیلوس نایجر* (بازدارندگی کامل رشد) در مقایسه با *اشرشیاکلای* و *لیستریامونوسایتوژنز* بیشتر بود. اندیس کاهش لگاریتمی کارواکرول در غلظت ۵ درصد در فیلم هیدروژلی بر پایه آرد فیلتر گندم علیه *اشرشیاکلای* و *لیستریامونوسایتوژنز* به‌ترتیب ۱/۱۶ و ۱/۳۴ لگاریتمی بود. بیشترین کاهش اندیس لگاریتمی فیلم فعال هیدروژلی در غلظت ۱۰ درصد کارواکرول علیه *لیستریامونوسایتوژنز* ۲/۷۱ مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آرد فیلتر گندم، بسته‌بندی ضدمیکروبی، هیدروژل، کارواکرول.

مقدمه

مهاجرت ترکیبات شیمیایی، آلودگی‌های زیست محیطی و مشکلات بازیافت ناشی از کاربرد پلی‌مرهای فسیلی جهت بسته‌بندی از جمله معایبی است که معطوف شدن به پلی‌مرها زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط زیست و نیز پژوهش‌های جدید برای یافتن جایگزین‌های مناسب را به همراه داشته است. در همین راستا بر اساس گزارش Briassoulis و Giannoulis (۲۰۱۸) نسبت پلاستیک به ماهی (نسبت یک به سه) در اقیانوس‌ها تا سال ۲۰۲۵ افزایش چشمگیری خواهد یافت. لذا جهت افزایش پایداری جهانی، تبدیل فرآورده جانبی به مواد با ارزش افزوده می‌تواند مفید واقع گردد (Tsang *et al*., 2019).

هیدروژل‌ها پلی‌مرهایی با توانایی جذب مقدار زیادی آب از طریق پیوند فیزیکی یا شیمیایی و ایجاد شبکه سه بعدی طبیعی یا مصنوعی می‌باشند (Ozel *et al*., 2017). در تکنولوژی مواد غذایی هیدروژل‌ها به‌عنوان حامل ترکیبات زیست‌فعال مورد توجه فراوان قرار گرفته است (Dordevic *et al*., 2015). در بیست سال اخیر هیدروژل‌های مختلف نظیر پروتئین (Betz and Kulozik, 2011)، پلی‌ساکارید (Mun *et al*., 2015)، آلژینات (Wichchukit *et al*., 2013)، کیتوزان (Lu *et al*., 2015) و پکتین (Luqin *et al*., 2009) بررسی شده است. از عوامل اصلی محدودیت کاربرد زیست‌پلی‌مرها در صنایع بسته‌بندی می‌توان به شکنندگی، نفوذپذیری زیاد نسبت به گازها و ماهیت آب‌دوستی اشاره کرد. با توجه به مشکلات اشاره شده، ترکیب هیدروژل‌ها با ماهیت متفاوت نظیر نشاسته–پروتئین (Coughlan *et*

۱، ۲، ۳ و ۵- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، استاد و دانشیار، گروه فناوری مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۴- استاد، گروه میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
(*- نویسنده مسئول: Email: Kashiri.m@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i5.85240

(Bravin *et al*., 2004; Jagannath *et al*., 2003) و نشاسته–لیپید (*al*., 2004) جهت بهبود ویژگی عملکردی و ممانعت‌کنندگی در برابر بخار آب گزارش شده است. به‌عبارتی در تولید فیلم‌های زیستی استفاده از روش ترکیبی از پلی‌مر با تأکید بر اصلاح رفتار عملکردی پلی‌مرهای بسته‌بندی (نفوذپذیری نسبت به گاز، آب، ویژگی‌های مکانیکی و مهاجرت) رویکردی جدید محسوب می‌شود. در همین راستا بر اساس گزارش برخی از پژوهشگران استفاده از مخلوط پلی‌مر نشاسته، پروتئین و لیپید نظیر آرد حاصل از محصولات کشاورزی برنج (Dias *et al*., 2010)، تریتیکاله (Dias *et al*., 2010, Borneo *et al*., 2016, Romero *et al*., 2016)، آچیرا (Andrade-Mahecha *et al*., 2012)، موز (Pelissari *et al*., 2013, Gutiérrez *et al*., 2016) آمارنت و چاودار (Drakos *et al*., 2018)، بادمجان (Nouraddini *et al*., 2018) و کدو تنبل (Gutiérrez, 2018) به‌دلیل سازگاری بهتر در یک سیستم ترمودینامیکی در مقایسه با زیست پلی‌مر خالص پیشنهاد شده است.

آرد فیلتر گندم[1] (WFF) محصولی اجتناب‌ناپذیر از طبقه بندی آرد تحت سیستم پنوماتیک در صنعت مدرن آسیابانی گندم می‌باشد که حدود ۱/۵– ۰/۵ درصد از گندم تحت فرایند را در بر می‌گیرد (Wang *et al*., 2013). بر اساس آخرین آمار فائو تولید گندم ایران در سال ۲۰۱۸ نزدیک به ۱۳/۴ میلیون تن گزارش شده است که با توجه به میزان آرد فیلتر گندم تولیدی طی فرایند آسیابانی استفاده آن در صنایع غذایی رویکرد جدید و جذاب تلقی می‌گردد (FAO, 2018). آرد فیلتر گندم، ترکیب است تقریبا سفید رنگ متشکل از مواد غیرآندوسپرم (لایه آلرون، ذرات ریز سبوس و جوانه است (Delcour and Hoseney, 2010) با درصد نسبتاً بالایی از پروتئین‌ها (آلبومین و گلوبولین) (Waggle *et* al., 1967) که برگشت آن به فرایند تولید آرد می‌تواند استحکام خمیر، درصد خاکستر و رنگ سفید آرد را تحت تأثیر قرار دهد (Hemdane *et al*., 2015). بدین سبب اغلب در تولید الکل (Neves *et al*., 2006)، مواد چسبنده و خوراک دام (Pomeranz, 1988) مورد استفاده قرار می گیرد. همان‌طوری که قبلا اشاره شد، بسیاری از پژوهشگران درصدد یافتن منابع ارزان قیمت مبتنی بر فراوده‌های جانبی یا ضایعات صنایع تبدیلی کشاورزی جهت تولید فیلم‌های زیستی و به‌کارگیری آن‌ها در صنایع بسته بندی باشند.

کارواکرول (۵–ایزوپروپیل –۲–متیل فنول) ترکیبی با ساختار مونوترپنی که در اسانس‌های روغنی مشتق شده از گیاهان معطر نظیر پونه و آویشن یافت می‌شود. بر اساس گزارش پژوهشگران فعالیت ضدمیکروبی کارواکرول به حضور حلقه آروماتیک و گروه‌های هیدروکسیل در ساختار فنولی نسبت داده می‌شود (Ben Arfa *et al*., 2006). گروه‌های هیدروکسیل در ساختار این ترکیبات بسیار واکنش‌پذیر و به راحتی می‌توانند با مکان‌های فعال آنزیم‌ها پیوند هیدروژنی برقرار کنند (Farag *et al*., 1989). در همین راستا فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های زیستی حاوی کارواکرول مورد بررسی برخی از پژوهشگران قرارگرفته است (Rojas-Graü *et al*., 2007, Kavoosi *et al*., 2013, Ramos *et al*., 2014). Rojas-Graü و همکاران (۲۰۰۷) بررسی فعالیت ضدمیکروبی فیلم زیستی بر پایه پوره سیب و آلژینات در حضور اسانس پونه‌کوهی، کارواکرول، اسانس دارچین، سینامالدئید، اسانس لیمو و سیترال حاکی از برتری قدرت فعالیت ضدمیکروبی کارواکرول علیه باکتری *اشرشیاکلای* نسبت به اسانس پونه‌کوهی، سیترال، اسانس لیمو، سینامالدئید و دارچین بوده است. Ramos و همکاران (۲۰۱۴) قطر هاله بازدارندگی فیلم پلی‌پروپیلن حاوی تیمول در مقایسه کارواکرول بیشتر گزارش کردند.

حضور ترکیبات فعال در بستر فیلم‌های زیستی علاوه بر بروز فعالیت ضدمیکروبی می‌تواند بر ویژگی فیزیکی و مکانیکی اثرات مختلفی داشته باشد. در همین راستا Pires و همکاران (۲۰۱۱)، اثرافزودن اسانس آویشن در فیلم پروتئین ماهی Hake بر کاهش ضخامت فیلم موثرگزارش کردند. این در حالی است که برخی از پژوهشگران افزایش ضخامت فیلم‌ها ناشی از افزودن اسانس آویشن در فیلم کیتوزان (Ojagh *et al*., 2010) و موسیلاژ دانه به (Jouki *et al*., 2014a) و نیز اسانس لیمو در فیلم بر پایه ژلاتین (Ahmad *et al*., 2012) گزارش کردند. بررسی نتایج پژوهشگران حاکی از اختلاف اثربخشی اسانس‌ها در پلی‌مرهای مختلف است که در همین راستا می‌توان به کاهش حلالیت فیلم‌ها با افزودن اسانس آویشن در فیلم دانه به (Jouki *et al*., 2014b) و نیز کارواکرول و عصاره دانه انگور در فیلم کیتوزان (Rubilar *et al*., 2013) اشاره کرد. در حالی‌که افزایش حلالیت فیلم زئین حاوی اسانس آویشن شیرازی (Kashiri *et al*., 2017)؛ فیلم ژلاتین حاوی کارواکرول (Kavoosi *et al*., 2013)؛ فیلم بر پایه موسیلاژ دانه به حاوی اسانس پونه کوهی (Jouki *et al*., 2014a) و نیز فیلم کیتوزان حاوی آویشن (Hosseini *et al*., 2009) گزارش شده است.

ماهیت افزودنی‌ها در فرمولاسیون فیلم‌های زیستی می‌تواند نقش موثری بر نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی داشته باشد (Atarés and Chiralt, 2016). در همین راستا کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب در حضور اسانس آویشن در فیلم‌های زیستی مختلف نظیر پروتئین ماهی هیک (Pires *et al*., 2011)، نشاسته (Ghasemlou *et al*., 2013) گزارش شده است. از دیگر ترکیبات فعال موثر بر کاهش نفوذپذیری به بخار آب می‌توان به اسانس برگ چای در فیلم بر پایه هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (Sánchez-González *et al*., 2009)، کارواکرول و عصاره دانه انگور در فیلم بر پایه کیتوزان

1 Wheat filter flour (WFF)

(Rubilar *et al*., 2013)، اسانس لیمو در فیلم ژلاتین (Ahmad *et al*., 2012)، اسانس پونه کوهی در فیلم نشاسته-کیتوزان (Pelissari *et al*., 2009) اشاره کرد. از طرفی بسته به ماهیت ترکیبات، افزایش نفوذپذیری به بخار آب در برخی از فیلم‌های زیستی گزارش شده است که از این بین می‌توان به اثر افزودن آویشن شیرازی در فیلم زئین (Kashiri *et al*., 2017)، کاراواکرول در فیلم بر پایه نشاسته (همایونی و همکاران، ۲۰۱۶)، اسانس آویشن، میخک و دارچین در فیلم بر پایه کیتوزان (Hosseini *et al*., 2009)، کاراواکرول در فیلم بر پایه ژلاتین (Kavoosi *et al*., 2013) و اسانس سیر به فیلم بر پایه آلژینات (Pranoto *et al*., 2005) اشاره کرد.

رویکردهای نوین مبتنی بر کاربرد محصولات جانبی حاصل از کارخانجات مواد غذایی در تولید محصولات دوست‌دار طبیعت مورد توجه پژوهشگران و صنعت‌گران قرار گرفته است.. با توجه به این که تاکنون در حوزه بسته‌بندی فعال از محصولات جانبی صنعت تولید آرد پژوهشی صورت نگرفته است، لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیرغلظت کاراواکرول در غلظت ۵ و ۱۰ بر ویژگی‌های فیزیکی (نفوذپذیری نسبت به بخارآب و ...)، مکانیکی فیلم‌های هیدروژل بر پایه آرد فیلتر و نیز ارزیابی فعالیت ضدباکتری (*اشرشیاکلای* و *لیستریامونوسایتوژنز*) و ضد قارچ (*آسپرژیلوس نایجر*) بود.

مواد و روش‌ها

آرد فیلتر گندم با ۱۱/۲۵ درصد رطوبت، ۱۴/۰۳ درصد پروتئین و ۶۲/۷ درصد نشاسته (آرد زاهدی گرگان)، گلیسرول (مرک، آلمان)، کاراواکرول (سیگما، آمریکا) و هیدروکسید سدیم (تیتراکم، ایران)، نوترینت آگار و سیب‌زمینی دکستروز آگار (مرک، آلمان) در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

تولید فیلم هیدروژلی

در این پژوهش با استفاده از تکنیک قالب‌گیری مطابق روش موسوی و همکاران (۲۰۱۹) فیلم هیدروژلی تولید شد. در این روش محلول آبی حاوی ۶ درصد (وزنی-وزنی) آرد فیلتر گندم آماده و به‌منظور انحلال پروتئین‌ها pH محلول حدود ۱۰/۷ تنظیم شد. محلول حاصل از این مرحله به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌منظور ژلاتینه‌شدن نشاسته در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری شیکردار قرار گرفت. در ادامه فرآیند پس از کاهش دمای بن‌ماری به دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گلیسرول در غلظت مختلف ۳۵ درصد نسبت به وزن پلیمر به محلول اضافه و به‌مدت ۱۵ دقیقه روی بن‌ماری شیکردار قرار داده شد. پس از همگن شدن نرم‌کننده کاراواکرول در غلظت ۵ و ۱۰ درصد به محلول فیلم، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول نهایی داخل پلیت‌هایی به قطر۱۰×۱۰ سانتی‌متر ریخته و در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

ارزیابی ویژگی‌های هیدروژل‌های تولیدی

ارزیابی ضخامت هیدروژل‌های تولیدی

ضخامت فیلم‌های تولید شده با استفاده از میکرومتر دیجیتال (Mitutoyo, Japan) با حساسیت ۰/۰۰۱ میلی‌متر در ۱۰ نقطه برای هر فیلم اندازه‌گیری شد و میانگین آن‌ها به‌عنوان ضخامت فیلم گزارش شد. (Mossavi *et al* ., 2019).

ارزیابی رطوبت هیدروژل‌های تولیدی

قطعات فیلم‌های هیدروژلی به ابعاد ۳×۲ سانتی‌متر مربع بریده و درون پلیت‌هایی که از قبل به وزن ثابت رسیده، توزین گردید و در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت حرارت داده شدند. میزان کاهش وزن نمونه نسبت به وزن نمونه اولیه به‌عنوان مقدار رطوبت فیلم گزارش گردید(Abdollahi *et al*., 2013)

ارزیابی نفوذپذیری نسبت به بخار آب هیدروژل‌های تولیدی

نفوذپذیری نسبت به بخار آب بر اساس تغییرات وزنی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر اساس روش مصوب ASTM[1] به شماره ۹۵-۹۶ E انجام شد .

ارزیابی حلالیت هیدروژل‌های تولیدی

قطعات فیلم های هیدروژلی تولیدی به ابعاد ۳×۲ سانتی‌متر مربع بریده و داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. بعد از آون گذاری فیلمها توزین (W_1) و درون ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ۲۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند. پس از سپری شدن زمان لازم محلول حاصل از کاغذ صافی وزن شده عبور و در ادامه کاغذ صافی به‌همراه نمونه رسیدن به وزن ثابت در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (W_2) و در نهایت حلالیت هیدروژل‌ها از رابطه ۱محاسبه شد (Mossavi *et al* ., 2019).

$$WS\ (\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \qquad (۱)$$

ارزیابی زاویه تماس هیدروژل‌های تولیدی

جهت اندازه‌گیری زاویه تماس فیلم¬های زیستی از گونیومتر PG-X (Thwing-Albert Instrument Co., USA) استفاده شد. میکرولیتر آب دیونایزر بر سطح فیلم به ابعاد ۵×۵ سانتی‌متر ریخته و

1 American Standard. American Society (ASTM)

تانژانت زاویه قطره آب با سطح فیلم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد طی مدت یک دقیقه تعیین گردید (Ojagh *et al*., 2010).

ارزیابی ویژگی‌های مکانیکی هیدروژل‌های تولیدی

ویژگی‌های مکانیکی با استفاده از بافت‌سنج (AT-XT-Plus، Stable Micro Systems, Surrey UK) و نرم‌افزار مربوطه (Texture Expert 1.05) با نیرویی معادل ۵۰ نیوتن اندازه‌گیری شد. نوارهای فیلم به ابعاد عرض ۲۵ میلی‌متر و طول ۱۰۰ میلی‌متر بر اساس روش (ASTM D–۸۸۲) برش داده شدند. فاصله بین دو فک ۵ سانتی‌متر و سرعت بارگذاری ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم گردید. ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها شامل مقاومت کششی (TS) با تقسیم حداکثر نیرو (F_{max}) به سطح اولیه (A) بر حسب مگاپاسکال و افزایش طول تا نقطه شکست (EAB %) با نسبت افزایش طول فیلم (ΔL) در نقطه پاره شدن به طول اولیه (L_0) بر حسب درصد مطابق با رابطه ۲ و ۳ محاسبه گردیدند (ASTM, 2009).

$$TS = \frac{F_{max}}{A} \qquad (۲)$$

$$EAB = \frac{\Delta L}{L} \times 100 \qquad (۳)$$

ارزیابی رنگ‌سنجی هیدروژل‌های تولیدی

ارزیابی رنگ فیلم‌های هیدروژلی با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج Lovibond (CAM- system England 500)تعیین گردید صفحه استاندارد رنگ سفید به‌عنوان پس‌زمینه با مشخصات L*=۹۷/۱، a*=۰/۱۳، b*=۱/۸۸ برای اندازه‌گیری رنگ مورد استفاده قرار گرفت. اندیس L* توصیف کننده روشنی (صفر= سیاه و ۱۰۰= سفید) در نظر گرفته شد. در تعریف رنگ نمونه‌ها اندیس a* بیانگر قرمزی (مثبت) و سبزی (منفی) و اندیس b* نشان‌دهنده زردی (مثبت) و آبی (منفی) بود. اختلاف رنگی کل (ΔE) و اندیس سفیدی (WI) مطابق رابطه‌های ۴ و ۵ محاسبه گردید(Kashiri *et al*., 2017).

$$\Delta E= [(\Delta L)^2+(\Delta a)^2+(\Delta b)^2]^{1/2} \qquad (۴)$$

$$WI=100-[(100-L)^2+a^2+b^2]^{1/2} \qquad (۵)$$

ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی هیدروژل‌های تولیدی

آماده‌سازی سویه‌های

جهت انجام آزمون‌های میکروبی، باکتری‌ها روی محیط کشت نوترینت آگار در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. در مرحله بعد به منظور فعال‌سازی باکتریایی یک لوپ باکتری به ۱۰ میلی‌لیتر نوترینت براث تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید (دانسیته نوری ۰/۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر بیانگر ابتدای فاز سکون می‌باشد). در مرحله بعد برای رسیدن به فاز لگاریتمی رشد، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده شده، در ۱۰ میلی‌لیتر نوترینت براث تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا حصول دانسیته نوری ۰/۲ در طول موج ۶۰۰ نانومتر نگه‌داری شد (Kashiri *et al*., 2019).

جهت آماده سازی محلول قارچی، *آسپرژیلوس نایجر* (آسپرژیلوس ATCC v160 تهیه شده از کلسیون میکروبی پژوهش والنسیا) روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار به مدت ۱۰-۷ روز در دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد) گرمخانه‌گذاری شدند. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ درصد توبین ۸۰ اضافه و با میله شیشه‌ای خمیده استریل سطح کشت برای برداشت اسپور به آرامی خراش داده شد. به‌منظور حذف قطعات میسلوم، سوسپانسیون با استفاده از پشم شیشه فیلتر شد. بعد از شیک کردن آن، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر میزان عبور نور سوسپانسیون مورد سنجش قرار گرفت (میزان عبور نور ۹۰ درصد برای به‌دست آوردن $۱۰^۶$ کونیدی‌های قارچی در هر میلی‌لیتر سوسپانسیونی با غلظت تقریبا مورد نیاز است (Heras-Mozos *et al*, 2019)

ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی فیلم هیدروژلی حاوی کارواکرول در محیط جامد

۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با استفاده از سوآپ استریل، روی محیط کشت تریپتون سوی آگار (باکتری) و سیب زمینی دکستروز آگار (قارچ) پخش گردید. فیلم‌های هیدروژلی به قطر ۸ سانتی‌متر در سطح فوقانی پلیت‌ها (بدون تماس مستقیم با میکروارگانیسم) چسبانده شدند. در ادامه جهت کاهش خروج ترکیبات فرار موجود در اسانس، هر یک از پلیت‌ها با پارافیلم محصور و در گرمخانه‌گذاری شدند (۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت (ارزیابی ویژگی ضدباکتریایی) و ۲۵ درجه سانتی گراد ۵ روز). نتایج فعالیت ضدمیکروبی در فاز بخار نیز بر اساس شدت تأثیرگذاری با اصطلاحاتی نظیر بازدارندگی کامل (+++) (متوقف کامل رشد)، بازدارندگی نسبی (++) (اندکی رشد میکروبی)، کاهش قابل مشاهده در دانسیته میکروبی (+) (تقلیل اندک در مقایسه با نمونه شاهد رشد میکروبی) و در نهایت فاقد بازدارندگی (−) (رشد کامل میکروارگانیسم) گزارش گردید (Kashiri *et al*., 2017).

ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی فیلم هیدروژلی حاوی کارواکرول در محیط مایع

۰/۲۵ گرم از فیلم‌های پودر نرم گندم حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول در ۱۰ میلی‌لیتر محلول نوترینت براث در شرایط کاملا استریل قرار داده شد و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های *اشرشیاکلای* و *لیستریامونوسایتوژنز* در مرحله رشد لگاریتمی به آن

اضافه گردید. در ادامه نمونه‌های تلقیح شده با سلول‌های میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند. با توجه به کدورت ایجاد شده در بطری‌های حاوی فیلم رقت‌سازی با محلول سرم فیزیولوژی انجام و در محیط کشت نوترینت آگار جهت شمارش تعداد میکروب‌ها کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت نگه‌داری در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تعداد کلنی‌ها شمارش گردیدند (Kashiri *et al*., 2019).

بررسی ریز ساختارهای فیلم‌های تولیدی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

نمونه‌های فیلم پس از خشک کردن در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل مطابق روش موسوی و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. اثر تیمارهای مورد بررسی با استفاده از تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) ارزیابی گردید و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 8.7 و رسم نمودار با اکسل انجام گرفت.

نتایج و بحث

تأثیر غلظت کاراواکرول بر ضخامت فیلم‌های هیدروژلی

همان طوری که در جدول ۱ مشاهده می شود با افزودن کاراواکرول، ضخامت فیلم‌های هیدروژلی بر پایه آرد فیلتر به‌طور افزایش معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد نشان داد که از این حیث با نتایج برخی از پژوهشگران مبنی بر افزایش ضخامت فیلم‌های بر پایه سویا (Salarbashi *et al*., 2013)، ژلاتین (Ahmad *et al*., 2012) و نشاسته ذرت (Ghasemlou *et al*., 2013) با افزایش غلظت اسانس مشابهت داشت. در همین راستا حضور برخی از ترکیبات نظیر اسانس پونه کوهی در فیلم‌های پروتئین تریتیکاله (Aguirrea *et al*., 2013)، کاراواکرول و عصاره دانه انگور در فیلم‌های کیتوزان (Rubilar *et al*., 2013) بر ضخامت هیدروژل‌ها معنی‌دار گزارش نشده است. از طرفی پریس و همکاران (۲۰۱۱) اثر افزایش غلظت اسانس آویشن بر ضخامت فیلم پروتئین ماهی را کاهشی گزارش کردند (Pires *et al*., 2011). لذا بر اساس گزارش‌های پژوهشگران فوق می‌توان بیان داشت که علاوه بر غلظت اسانس، نوع پلی‌مر و ماهیت اسانس مصرفی می‌تواند بر ضخامت فیلم‌های تولیدی اثرگذار باشد.

تأثیر غلظت کاراواکرول بر رطوبت فیلم‌های هیدروژلی

تأثیر افزودن کاراواکرول بر رطوبت فیلم‌های تولیدی در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کاراواکرول از ۵ درصد به ۱۰ درصد رطوبت فیلم‌ها از ۱۳/۱۸±۱/۲۴ درصد به ۹/۸۵±۰/۵۱ درصد کاهش یافت. اسانس‌ها ترکیباتی آب‌گریز هستند که در قابلیت جذب آب فیلم‌ها تأثیرگذارند که با نتایج سالارباشی و همکاران (۲۰۱۳) مبنی بر کاهش رطوبت با افزودن اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی به فیلم بر پایه پلی‌ساکاریدهای محلول سویا مشابهت داشت. جوکی و همکاران (۲۰۱۴) افزودن اسانس پونه کوهی به فیلم بر پایه دانه به و افزایش رطوبت فیلم‌ها را به تخریب شبکه پلی‌مر و تشکیل پیوند هیدروژنی بیشتر بین پلی‌مر و آب نسبت دادند. این در حالی است که نتایج پژوهش حاضر با نتایج اجاق و همکاران (۲۰۱۰) مبنی بر کاهش رطوبت فیلم‌های بر پایه کیتوزان با افزودن اسانس دارچین مغایرت داشت.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی فیلم‌های هیدروژلی آرد فیلتر گندم حاوی کاراواکرول

فیلم	ضخامت (میلی متر)	رطوبت (درصد)	حلالیت در آب (درصد)	نفوذپذیری به بخار آب ($۱۰^{-۱۰}$× گرم متر ثانیه پاسکال)	زاویه تماس
FPW	۰/۱۳۵±۰/۰۰۷ [c]	۱۳/۱۸±۱/۲۴ [a]	۴۰/۰۶±۱/۵ [a]	۱/۱۴±۰/۱۲ [a]	۴۱/۱۰±۰/۷۲ [b]
FPW+5%c	۰/۱۵۸±۰/۰۰۶ [b]	۱۱/۳۵±۰/۷۱ [ab]	۳۸/۵۱±۱/۲ [ab]	۱/۲±۰/۴۲ [a]	۴۵/۴۳±۰/۳۴ [b]
FPW+10%c	۰/۱۷۴±۰/۰۰۴ [a]	۹/۸۵±۰/۵۱ [b]	۳۷/۰۱±۰/۶۳ [b]	۱/۳۲±۰/۲۳ [a]	۵۵/۲۱±۰/۴۹ [a]

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

تأثیر غلظت کاراواکرول بر زاویه تماس فیلم‌های هیدروژلی

زاویه تماس زاویه‌ای است که اگر یک قطره از یک مایع مشخص بر سطح جامد قرار گیرد، بین سطح جامد و هوا تشکیل می‌شود. از آن جائی که فیلم‌های کربوهیدراتی ماهیت آب‌دوستی دارند، اندازه‌گیری زاویه تماس آب، شاخص خوبی برای تعیین میزان آب‌دوست بودن آن‌ها محسوب می شود. همان‌طوری که در جدول ۱ نشان داده شده است زاویه تماس فیلم هیدروژل فاقد کاراواکرول برابر ۰/۷۲ ± ۴۱/۱۰ درجه تعیین گردید. زاویه تماس هیدروژل‌های تولیدی با افزایش غلظت کاراواکرول از ۵ درصد (۰/۳۴ ± ۴۵/۴۳ درجه) به ۱۰ درصد (۰/۴۹ ± ۵۵/۲۱۱ درجه) زاویه تماس هیدروژل های تولیدی ۲۱/۵۰

درصد افزایش نشان داد. این نتایج به معنی بهبود ویژگی‌های سطحی هیدروژل‌ها در حضور کاراواکرول است دلیل این امر احتمالا به ماهیت هیدروفوب بیشتر کاراواکرول در مقایسه با هیدوژل‌ها بر پایه آرد فیلتر گندم مرتبط می‌باشد در همین راستا روند مشابهی در زاویه تماس فیلم‌های زیستی با افزودن کاروکرول (Dhumal *et al*., 2019) و پونه کوهی (Hashemi Gahruie, *et al*., 2017) به‌ترتیب در بستر پلی‌مری نشاسته- گوار و صمغ دانه ریحان گزارش شده است.

تأثیر غلظت کاراواکرول بر حلالیت در آب فیلم‌های هیدروژلی

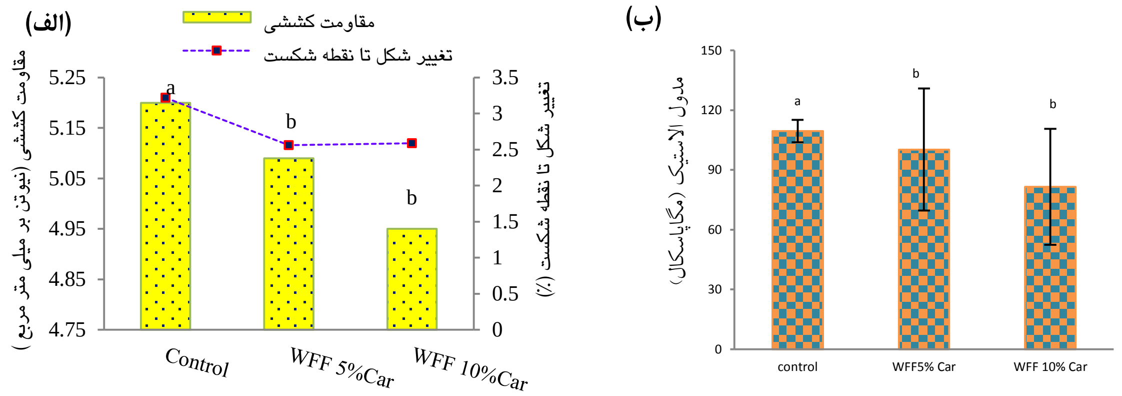
قابلیت انحلال در آب یکی از ویژگی‌های مهم در انتخاب فیلم جهت کاربردهای مختلف است. هنگامی‌که بسته‌بندی مواد غذایی با فعالیت آبی بالا مد نظر است، حلالیت در آب یک ویژگی نامطلوب درحالی که مواردی نظیر ریزپوشانی ترکیب مغذی حلالیت در آب ویژگی مطلوب تلقی می‌شود. استفاده از ترکیبات لیپیدی یکی از راهکارهای افزایش مقاومت نسبت به آب پلی‌مرهای بسته‌بندی به شمار می‌رود (Ghasemlou *et al*., 2013). لازم به ذکر است مقایسه عملکرد اسانس در فیلم‌ها وابسته به ماهیت پلی‌مر و نیز اسانس باشد (Atarés and Chiralt, 2016). حلالیت در آب فیلم‌های هیدروژلی حاوی کاراواکرول در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طوری که مشاهده شد با افزایش غلظت کاراواکرول از ۵ درصد به ۱۰ درصد حلالیت فیلم‌ها از ۰/۶۳± ۴۰/۰۶ درصد به ۱/۵± ۳۷ درصد کاهش نشان داد از این حیث با نتایج Dhumal و همکاران (۲۰۱۹) مبنی بر کاهش حلالیت فیلم زیستی با افزودن کاراواکرول مطابقت داشت. در همین راستا Atef و همکاران (۲۰۱۵) دلیل کاهش حلالیت فیلم‌ها حاوی اسانس را به برهم‌کنش اسانس–پلی‌مر و جلوگیری از تشکیل پیوند بین پلی‌مر–آب نسبت دادند.

تأثیر غلظت کاراواکرول بر نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های هیدروژلی

یکی از مهم‌ترین کاربردهای بسته‌بندی در مواد غذایی کاهش نرخ انتقال رطوبت و گازها بین غذا با محیط اطراف می‌باشد. تلاش‌های بسیاری به‌منظور افزایش بازدارندگی در برابر بخار آب فیلم‌ها صورت پذیرفته است. نقش ترکیبات لیپیدی نظیر اسانس‌ها در بهبود ممانعت کنندگی در برابر نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های زیستی مورد بررسی قرار گرفته است (Dhumal *et al*., 2019, Pelissari *et al*., 2009, Pranoto *et al*., 2005). اگرچه انتقال بخار آب از طریق بخش‌های آبدوست پلی‌مر رخ می‌دهد، اما قابل ذکر است نفوذپذیری به بخار آب تحت تأثیر نسبت ترکیبات آب‌گریز و آب‌دوست فیلم، فرمولاسیون و چگونگی تشکیل فیلم قرار دارد. نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم‌های هیدروژلی بر پایه آرد فیلتر در جدول ۱ نشان داده شده است. نفوذپذیری نسبت به بخار آب فیلم هیدروژلی فاقد کاراواکرول برابر $1/14 \times 10^{-10}$ (گرم متر ثانیه پاسکال) بود. همان‌طوری که مشاهده شد با افزایش غلظت کاراواکرول تغییرات معنی‌داری در نفوذپذیری نسبت به بخار آب مشاهده نشد ($P>0/05$) که از این حیث با نتایج برخی از پژوهشگران مطابقت داشت (Azadbakht *et al*., 2018; Hosseini *et al*., 2009). همچنین لازم به ذکر است نتایج پژوهش حاضر با گزارش برخی از پژوهشگران مبنی بر افزودن اسانس برگ چای در فیلم هیدروکسی پروپیل متیل و اسانس دارچین در فیلم کیتوزان (Ojagh *et al*., 2010) مغایرت داشت. در همین راستا بر اساس گزارش Dhumal و همکاران (۲۰۱۹) مبنی بر نقش اسانس‌ها به‌عنوان نرم‌کننده در بستر پلی‌مری و تاثیر آن در تسریع انتقال رطوبت و از سوی دیگر ماهیت آب‌گریزی اسانس و کاهش توانایی انتقال رطوبت در فیلم های زیستی می‌توان اظهار کرد که اثربخشی اسانس‌ها وابسته به پتانسیل آن‌ها در تغییرات بخش آب‌دوست و آب‌گریز بستر پلی‌مری است.

تأثیرغلظت کاراواکرول بر ویژگی مکانیکی فیلم‌های هیدروژلی

نتایج حاصل از بررسی تأثیر کاراواکرول بر خصوصیات مکانیکی فیلم پودر نرم گندم در شکل ۱ نشان داده شده است. کشش‌پذیری فیلم هیدروژلی بدون کاراواکرول ۲/۲۳±۳۱/۱۶ درصد تعیین گردید. همانطوری که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت کاراواکرول کشش‌پذیری فیلم‌ها افزایش و مقاومت به کشش آن‌ها کاهش یافت (شکل ۱– الف) که دلیل این امر را می‌توان بر اساس گزارش همایونی و همکاران (۲۰۱۷) به جایگزینی اسانس با بخشی از پیوند قوی پلی‌مر–پلی‌مر با پیوند ضعیف پلی‌مر– اسانس نسبت داد که تضعیف ساختار فیلم و افزایش توانایی حرکت زنجیره‌های پلی‌مر موجب می‌گردد (Homayouni *et al*, 2017). در همین راستا در تطابق با یافته‌های این پژوهش می‌توان به افزودن آویشن شیرازی و پونه کوهی به فیلم نشاسته ذرت (Ghasemlou *et al*., 2013)، اسانس پونه‌کوهی به فیلم نشاسته–کیتوزان (Pelissari *et al*, 2009) اشاره کرد. از طرفی اجاق و همکاران (۲۰۱۰) افزودن اسانس دارچین به فیلم بر پایه کیتوزان در افزایش مقاومت به کشش فیلم و کاهش کشش‌پذیری مؤثر گزارش کردند. این پژوهشگران که علت این امر را کاهش حجم فضای آزاد و کاهش توانایی حرکت زنجیره‌های پلی‌مر به سبب پیوند قوی بین کیتوزان و اسانس نسبت دادند (Ojagh *et al*., 2010).



شکل ۱- ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های هیدروژلی تولیدی

تأثیر غلظت کاراواکرول بر رنگ سطحی فیلم‌های هیدروژلی

نوع مواد افزودنی با توجه به ماهیت و چگونگی پراکنش آن‌ها در محلول تشکیل دهنده فیلم می‌تواند منجر به بروز تغییراتی در پارامترهای رنگی فیلم تولیدی گردد (Dhumal *et al.*, 2019) . به بیان دیگر شدت تغییرات رنگی فیلم می‌تواند تحت تأثیر ساختار پلی‌مر و پیگمان‌های رنگی ماده افزودنی و پلی‌مر قرار دارد. فیلم‌های هیدروژلی آرد فیلتر گندم (شاهد)، ظاهری شفاف و رنگی متمایل به زرد داشت. تأثیرافزودن کاراواکرول بر ویژگی‌های رنگی فیلم‌های هیدروژلی آرد فیلتر گندم در جدول ۲ نشان داده شده است. همان طوری که مشاهده می‌شود افزودن کاراواکرول تغییر معنی‌داری بر شفافیت فیلم نداشت (P>۰/۰۵).

شاخص زردی فیلم‌های تولیدی با افزودن کاراواکرول افزایش یافت که دلیل تغییر در این شاخص بر اساس گزارش Dhumal و همکاران (۲۰۱۹) به پیگمان‌های موجود در کاراواکرول نسبت داده شده است. نتایج حاصل از این تحقیق با گزارش سایر پژوهشگران مبنی بر افزایش شاخص زردی با افزودن اسانس آویشن شیرازی در فیلم زئین (Kashiri *et al.*, 2017)، کاراواکرول در فیلم نشاسته- صمغ ریحان (Dhumal *et al.*, 2019)، اسانس سیر در فیلم بر پایه آلژینات (Pranoto *et al.*, 2005) و نیز اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی در فیلم بر پایه نشاسته ذرت (Ghasemlou *et al.*, 2013) مطابقت داشت.

جدول ۲- تأثیر کاراواکرول بر ویژگی‌های رنگی فیلم‌های تولیدی

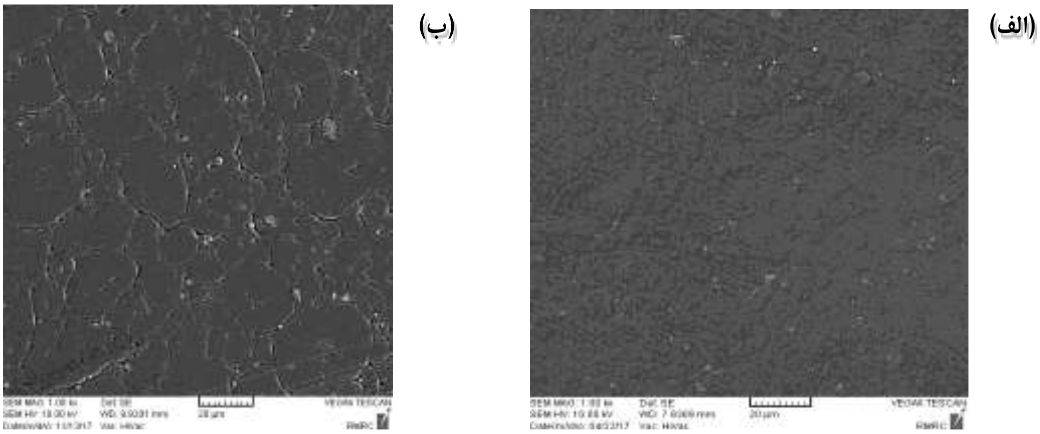
فیلم	L*	a*	b*	ΔE	YI	WI
H-FPW	۹۰/۵۶±۰/۴۵ [a]	۱/۵۶±۰/۴۰ [a]	۱۰/۳۶±۰/۳۲[b]	۱۰/۸۵±۰/۰۵[a]	۴/۸۹±۰/۱۲[b]	۸۵/۸۸±۰/۰۶[a]
H-FPW+5% C	۹۰/۲۳±۰/۰۶ [a]	۱/۶±۰/۱ [a]	۱۰/۷±۰/۲[ab]	۱۰/۹۰±۰/۱۴[a]	۵/۰۳±۰/۰۹[ab]	۸۵/۸۷±۰/۱۳ [a]
H- FPW+10%C	۹۰/۹۸±۰/۰۷ [a]	۱/۷±۰/۴۳ [a]	۱۱/۱±۰/۲ [a]	۱۱/۲۱±۰/۳۱[a]	۵/۲۲±۰/۱۲ [a]	۸۵/۵۹±۰/۲۸[a]

FPW هیدروژل آرد فیلتر گندم، FPW+5% C هیدروژل آرد فیلتر گندم حاوی ۵ درصد کاراواکرول، PW+10%C هیدروژل آرد فیلتر گندم حاوی ۱۰ درصد کاراواکرول

*اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها (P<۰/۰۵) به‌صورت حروف کوچک در هر ستون نشان داده شده است. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

ارزیابی شکل‌شناسی فیلم‌های هیدروژلی آرد فیلتر گندم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

تصاویر سطحی فیلم هیدروژلی آرد فیلتر گندم فاقد کاراواکرول (شاهد) و فیلم هیدروژلی حاوی کاراواکرول در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، افزودن کاراواکرول در محلول فیلمی موجب ایجاد فضاهای خالی در ساختار فیلم گردید. وجود این حفره‌ها و فضاهای خالی می‌تواند تاییدی بر افزایش نفوذپذیری نسبت به بخار آب و کاهش مقاومت کششی فیلم‌های هیدروژلی تولیدی تلقی گردد.



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی فیلم هیدروژلی آرد فیلتر گندم (الف) و فیلم هیدروژلی آردفیلتر گندم حاوی کارواکرول (ب)

ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی بخارهای کارواکرول در مدل غذایی جامد

تأثیر کارواکرول در فیلم هیدروژلی آرد فیلتر گندم در محیط جامد به‌صورت غیرمستقیم مهار رشد باکتری (*اشرشیاکلای* و *لیستریامونوسایتوژنز*) و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* مورد ارزیابی قرار گرفت. همان¬طوری که در جدول ۳ نشان داده شده است، فیلم هیدروژلی آرد فیلتر گندم (شاهد) فاقد هر گونه فعالیت ضد¬باکتریایی و قارچی بود. با افزودن ۵ درصد کارواکرول بازدارندگی متوسط (++) در جمعیت باکتری در سطح محیط کشت جامد مشاهده شد. با افزایش غلظت کارواکرول به ۱۰ درصد بازدارندگی باکتریایی نسبی (+++) علیه دو باکتری مورد بررسی مشاهده شد.

جدول ۳- تأثیر غلظت کارواکرول بر ویژگی باکتریایی فیلم هیدروژلی آرد فیلتر گندم

نوع میکروارگانیسم	فیلم (شاهد)	فیلم حاوی ۵ درصد کارواکرول	فیلم حاوی ۱۰ درصد کارواکرول
لیستریامونوسایتوژنز	–	++	+++
اشرشیا کلای	–	++	+++

+ (بازدارندگی اندکی)، ++ (بازدارندگی نسبی)



شکل ۳- تصاویر ویژگی ضدمیکروبی فیلم‌های هیدروژلی آرد فیلتر گندم علیه *آسپریلوس نایجر*

تأثیر اسانس در ترکیب فیلم‌های زیستی بر مهار رشد باکتری‌های و افزایش فعالیت بازدارندگی اسانس‌ها با افزایش غلظت گزارش شده است (Ghasemlou *et al*., 2013; Jouki *et al*., 2013). در همین راستا Kashiri و همکاران (۲۰۱۷) عدم فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی در فیلم زئین در محیط جامد گزارش کردند که در مقایسه با اثر ضدباکتریایی فیلم هیدروژلی حاوی کارواکرول در غلظت ۱۰ درصد در پژوهش حاضر می‌توان بیان داشت بخارهای کارواکرول

در بستر هیدروژلی بسیار موفق‌تر بوده است. از طرفی فعالیت ضد-باکتریایی اسانس اکالیپتوس در هیدروژل کیتوزان (Azadbakht *et al*, 2018) در بستر جامد قابل رقابت قلمداد گردد. علاوه بر ویژگی ضدباکتریایی، ویژگی ضدقارچی علیه *آسپرژیلوس نایجر* هیدوژل حاوی ۵ و ۱۰درصد کاراواکرول مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳). همان‌طوری که مشاهده می‌شود در غلظت ۵ درصد اسپورزایی قارچ کنترل و در غلظت ۱۰ درصد کارواکرول بازدارندگی کامل شده است. با توجه به این نتایج می‌توان بیان داشت بخارهای کارواکرول ویژگی ضدقارچی بهتری در مقایسه با دو باکتری در بستر فیلم هیدروژل نشان داد که از حیث کاربردی می‌تواند مورد توجه قرار گرفته شود.

تأثیر غلظت کارواکرول بر ویژگی ضدمیکروبی فیلم‌های هیدروژلی در مدل غذایی مایع

اثر ضدباکتریایی کارواکرول در فیلم هیدروژلی در تماس مستقیم با محیط مایع در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد علیه *لیستریامونوسایتوژنز* و *اشرشیاکلای* بررسی شد. نتایج اثر بازدارندگی فیلم‌های حاوی ۵ و ۱۰ درصد کارواکرول بر علیه دو باکتری فوق در جدول ۳ نشان داده شده است. در غلظت ۵ درصد ترکیب فعال، با توجه به تعداد باکتری در نمونه شاهد، مقدار کاهش اندیس لگاریتمی *اشرشیاکلای* و *لیستریامونوسایتوژنز* به‌ترتیب ۱/۱۶ و ۱/۳۴ تعیین شد. با افزایش غلظت کارواکرول به ۱۰ درصد مقدار کاهش لگاریتمی فیلم فعال هیدروژلی در برابر *اشرشیا کلای و لیستریامونوسایتوژنز* به‌ترتیب ۲/۳۳ و ۲/۷۱ گردید. مکانیسم عمل کارواکرول بر اساس تأثیر بر لایه لیپیدی غشای سیتوپلاسمی باکتریایی و از دست دادن انسجام بافتی، افت نیروی پروتون متحرکه و در نتیجه نشت مواد سلولی مانند یون، ATP و اسید نوکلئیک از سلول می‌باشد. با افزایش غلظت کارواکرول به ۱۰ درصد، مقدار کاهش لگاریتمی فیلم زیست فعال در برابر باکتری‌ها افزایش نشان داد. با افزایش غلظت کارواکرول مقدار بیش‌تری از ترکیبات ترپنوئیدی از غشاء عبور و این امر می‌تواند منجر به افزایش اختلال فیزیکی در پایداری فسفولیپید و کاهش تعداد سلول‌های زنده گردد. همسو با نتایج این پژوهش می‌توان به افزایش اندیس کاهش لگاریتمی در فیلم اتیلن وینیل الکل حاوی ۱۰ درصد اسانس پونه کوهی (Muriel-Galet *et al*., 2012) در برابر *اشرشیاکلای و لیستریا مونوسایتوژنز* اشاره کرد.

جدول ۳- ارزیابی ویژگی ضدمیکروبی قیلم زیست فعال آرد فیلتر گندم حاوی کارواکرول در برابر *اشرشیاکلای و لستریامونوسایتوژنز* با لگاریتم تعداد واحد کلنی Log(cfu/ml) و اندیس کاهش لگاریتمی (LRV)

نوع فیلم	*اشرشیاکلای*		*لیستریامونوسایتوژنز*	
	Log(cfu/ml)	LRV	Log(cfu/ml)	LRV
نمونه شاهد (کنترل میکروبی)	۸/۸±۰/۰۲		۸/۹۲±۰/۰۳	
H-FPW+5% C	۷/۷۲±۰/۰۳	۱/۱۶	۷/۵۸±۰/۰۹	۱/۳۴
نمونه شاهد(کنترل میکروبی)	۸/۹۵±۰۲		۸/۹۱±۰/۰۱	
% C۱۰H-FPW+	۶/۶۲±۰/۰۷	۲/۳۳	۶/۱۹±۰/۱۵	۲/۷۱

هیدروژل آرد فیلتر گندم حاوی ۱۰ درصد کارواکرول FPW+10%C هیدروژل آرد فیلتر گندم حاوی ۵ درصد کاراواکرول، C FPW+5%

نتیجه‌گیری

در این پژوهش آرد فیلتر گندم به‌عنوان محصول جانبی ارزان قیمت صنعت آسیابانی گندم جهت تولید فیلم‌های هیدروژلی زیستی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به اهمیت کاهش مصرف مواد شیمیایی جهت کنترل رشد میکروبی کاراواکرول در دو غلظت ۵ و ۱۰ درصد علاوه بر بروز خواص ضدمیکروبی مطلوب در مدل غذایی جامد و مایع سبب افزایش مقاومت در برابر آب و بهبود خواص آب‌گریزی فیلم هیدروژلی بر پایه آرد گندم گردید. خواص ضدقارچی بخارهای کارواکرول علیه *آسپرژیلوس نایجر* در فیلم هیدروژلی در محیط جامد در مقایسه با باکتری مورد بررسی بیشتر بود. کاهش اندیس لگاریتمی فیلم فعال تولیدی در مدل غذایی مایع علیه *لیستریا مونوسایتوژنز* بیش از *اشرشیاکلای* بود. ارزیابی فیلم هیدروژلی آرد فیلتر گندم حاوی ۱۰ درصد کاراواکرول سامانه واقعی غذایی (کالباس به‌عنوان سامانه غذایی جامد) در دسترس بررسی که آینده نزدیک ارائه خواهد شد.

منابع

Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., & Miraki, R. 2013. Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 54, 166-173.

Aguirrea, A., Borneoa, R.B., & Leon, A.E. 2013. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience* 1, 2-9.

Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., & Agustini, T.W. 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids* 28, 189-199.

Andrade-Mahecha, M.M., Tapia-Blácido, D.R., & Menegalli, F.C. 2012. Development and optimization of biodegradable films based on achira flour. *Carbohydrate Polymers* 88, 449-458.

ASTM, 2009. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting D882-02, ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods., Philadelphia, PA.

ASTM, E., Standard test methods for water vapor transmission of materials, ASTM E.

Atarés, L., Chiralt, A., 2016. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in food science & technology* 48, 51-62.

Atef, M., Rezaei, M., & Behrooz, R. 2015. Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. *Food Hydrocolloids* 45, 150-157.

Azadbakht, E., Maghsoudlou, Y., Khomiri, M., & Kashiri, M. 2018. Development and structural characterization of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil: Potential as an antimicrobial carrier for packaging of sliced sausage. *Food Packaging and Shelf Life* 17, 65-72.

Ben Arfa, A., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N., & Chalier, P. 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in applied microbiology* 43, 149-154.

Betz, M., & Kulozik, U. 2011. Whey protein gels for the entrapment of bioactive anthocyanins from bilberry extract. *International Dairy Journal* 21, 703-710.

Borneo, R., Alba, N., & Aguirre, A. 2016. New films based on triticale flour: Properties and effects of storage time. *Journal of Cereal Science* 68, 82-87.

Bravin, B., Peressini, D., & Sensidoni, A. 2004. Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipid-based edible films. *Journal of agricultural and food chemistry* 52, 6448-6455.

Briassoulis, D., & Giannoulis, A. 2018. Evaluation of the functionality of bio-based food packaging films. *Polymer Testing* 69, 39-51.

Coughlan, K., Shaw, N., Kerry, J., & Kerry, J. 2004. Combined Effects of Proteins and Polysaccharides on Physical Properties of Whey Protein Concentrate-based Edible Films. *Journal of food science* 69.

Delcour, J.A., & Hoseney, R.C. 2010. Principles of cereal science and technology. St. Paul, MN, USA: AACC International.

Dhumal, C.V., Ahmed, J., Bandara, N., & Sarkar, P. 2019. Improvement of antimicrobial activity of sago starch/guar gum bi-phasic edible films by incorporating carvacrol and citral. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100380

Dias, A.B., Müller, C.M.O., Larotonda, F.D.S., & Laurindo, J.B. 2010. Biodegradable films based on rice starch and rice flour. *Journal of Cereal Science* 51, 213-219.

Dorđevic, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B., & Nedović, V. 2015. Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering* Reviews 7, 452-490.

Drakos, A., Pelava, E., & Evageliou, V. 2018. Properties of flour films as affected by the flour's source and particle size. *Food Research International* 107, 551-558.

Farag, R., Daw, Z., & Abo-Raya, S. 1989. Influence of some spice essential oils on Aspergillus parasiticus growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *Journal of Food Science* 54, 74-76.

Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M.J., & Khaksar, R. 2013. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate polymers* 98, 1117-1126.

Gutiérrez, T.J. 2018. Are modified pumpkin flour/plum flour nanocomposite films biodegradable and compostable, *Food Hydrocolloids* 83, 397-410.

Gutiérrez, T.J., Suniaga, J., Monsalve, A., & García, N.L. 2016. Influence of beet flour on the relationship surface-properties of edible and intelligent films made from native and modified plantain flour. *Food Hydrocolloids* 54, Part B, 234-244.

Hashemi Gahruie, H., Ziaee, E., Eskandari, M. H., & Hosseini, S. M. H. (2017). Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with Zataria multiflora essential oil nanoemulsion. *Carbohydrate Polymers*, 166, 93–103.

Hemdane, S., Leys, S., Jacobs, P.J., Dornez, E., Delcour, J.A., & Courtin, C.M. 2015. Wheat milling by-products and their impact on bread making. *Food Chemistry* 187, 280-289.

Heras-Mozos, R., Muriel-Galet, V., López-Carballo, G., Catalá, R., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. 2019. Development and optimization of antifungal packaging for sliced pan loaf based on garlic as active agent and bread aroma as aroma corrector. *International journal of food microbiology*, 290, 42-48.

Homayouni, H., Kavoosi, G., & Nassiri, S.M. 2017. Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of dispersion made from tapioca and gelatinized tapioca starch incorporated with carvacrol. *LWT* 77, 503-509.

Hosseini, M., Razavi, S., & Mousavi, M. 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of food processing and preservation* 33, 727-743.

Jouki, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S.A., & Koocheki, A. 2013. Physical, barrier and antioxidant properties of a novel plasticized edible film from quince seed mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules* 62, 500-507.

Jouki, M., Mortazavi, S.A., Yazdi, F.T., & Koocheki, A. 2014a. Optimization of extraction, antioxidant activity and functional properties of quince seed mucilage by RSM. *International Journal of Biological Macromolecules* 66, 113-124.

Jouki, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., & Koocheki, A. 2014b. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids* 36, 9-19.

Jagannath, J., Nanjappa, C., Das Gupta, D., & Bawa, A. 2003. Mechanical and barrier properties of edible starch–protein-based films. *Journal of applied polymer science* 88, 64-71.

Kashiri, M., Cerisuelo, J.P., Domínguez, I., López-Carballo, G., Muriel-Gallet, V., Gavara, R., & Hernández-Muñoz, P. 2017. Zein films and coatings as carriers and release systems of Zataria multiflora Boiss. essential oil for antimicrobial food packaging. *Food Hydrocolloids* 70, 260-268.

Kashiri, M., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. 2019. Antimicrobial packaging based on a LAE containing zein coating to control foodborne pathogens in chicken soup. *International Journal of Food Microbiology* 306, 108272.

Kavoosi, G., Dadfar, S.M.M., Mohammadi Purfard, A., & Mehrabi, R. 2013. Antioxidant and antibacterial properties of gelatin films incorporated with carvacrol. *Journal of Food Safety* 33, 423-432.

Lu, M., Li, Z., Liang, H., Shi, M., Zhao, L., Li, W., Chen, Y., Wu, J., Wang, S., Chen, X., Yuan, Q., & Li, Y. 2015. Controlled release of anthocyanins from oxidized konjac glucomannan microspheres stabilized by chitosan oligosaccharides. *Food* Hydrocolloids 51, 476-485.

Luqin, X., Pengtao, H., Ruihua, M., & Jianghong, L. 2009. Application of TEM on Hydrogeological Exploration in Xinji No. 1 Coalmine. Coal Geology of China, S1.

Mossavi, M., Kashiri, M., Maghsoudlou, Y., Khomiri , M., & Alami, M. 2019. mdrsjrns 15, 33-47.

Mun, S., Kim, Y.-R., McClements, D.J., 2015. Control of β-carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. *Food chemistry* 173, 454-461.

Muriel-Galet, V., López-Carballo, G., Gavara, R., &Hernández-Muñoz, P. 2012. Antimicrobial food packaging film based on the release of LAE from EVOH. *International Journal of Food Microbiology* 157, 239-244

Neves, M.A.d., Kimura, T., Shimizu, N., & Shiiba, K. 2006. Production of alcohol by simultaneous saccharification and fermentation of low-grade wheat flour. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49, 481-490.

Nouraddini, M., Esmaiili, M., & Mohtarami, F. 2018. Development and characterization of edible films based on eggplant flour and corn starch. International *Journal of Biological Macromolecules* 120, 1639-1645.

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., & Hosseini, S.M.H. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry* 122, 161-166.

Ozel, B., Cikrikci, S., Aydin, O., & Oztop, M.H. 2017. Polysaccharide blended whey protein isolate-(WPI) hydrogels: A physicochemical and controlled release study. *Food Hydrocolloids* 71, 35-46.

Pelissari, F.M., Andrade-Mahecha, M.M., Sobral, P.J.d.A., & Menegalli, F.C. 2013. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids* 30, 681-690.

Pelissari, F.M., Grossmann, M.V., Yamashita, F., & Pineda, E.A.G. 2009. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch− chitosan films incorporated with oregano essential oil. *Journal of agricultural and food chemistry* 57, 7499-7504.

Pires, C., Ramos, C., Teixeira, G., Batista, I., Mendes, R., Nunes, L., & Marques, A. 2011. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering* 105, 422-428.

Pomeranz, Y. 1988. Wheat: Chemistry and Technology, Vol. I. St-Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists.

Pranoto, Y., Rakshit, S.K., & Salokhe, V.M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT- Food Science and Technology* 38, 859-865.

Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A.J.M., & Garrigós, M.d.C. 2014. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. *LWT- Food Science and Technology* 58, 470-477.

Rojas-Graü, M.A., Raybaudi-Massilia, R.M., Soliva-Fortuny, R.C., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., & Martín-Belloso, O. 2007. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology* 45, 254-264.

Romero, V., Borneo, R., Passalacqua, N., & Aguirre, A. 2016. Biodegradable films obtained from triticale (x Triticosecale Wittmack) flour activated with natamycin for cheese packaging. *Food Packaging and Shelf Life* 10, 54-59.

Rubilar, J.F., Cruz, R.M.S., Silva, H.D., Vicente, A.A., Khmelinskii, I., & Vieira, M.C. 2013. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering* 115, 466-474.

Salarbashi, D., Tajik, S., Ghasemlou, M., Shojaee-Aliabadi, S., Shahidi Noghabi, M., & Khaksar, R. 2013. Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Carbohydrate Polymers* 98, 1127-1136.

Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. 2009. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids* 23, 2102-2109.
Tsang, Y.F., Kumar, V., Samadar, P., Yang, Y., Lee, J., Ok, Y.S., Song, H., Kim, K.-H., Kwon, E.E., & Jeon, Y.J. 2019. Production of bioplastic through food waste valorization. *Environment International* 127, 625-644.
Waggle, D., Lambert, M., Miller, G., Farrell, E., & Deyoe, C. 1967. Extensive analyses of flours and millfeeds made from nine different wheat mixes. 2. Amino acids, minerals, vitamins, and gross energy. *Cereal Chemistry* 44, 48-60.
Wang, J., Xie, A., & Zhang, C. 2013. Feature of air classification product in wheat milling: Physicochemical, rheological properties of filter flour. *Journal of cereal science* 57, 537-542.
Wichchukit, S., Oztop, M., McCarthy, M., & McCarthy, K. 2013. Whey protein/alginate beads as carriers of a bioactive component. *Food Hydrocolloids* 33, 66-73.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 5, Dec- Jan 2021, p. 875-887

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۰، ص.۸۸۷ -۸۷۵

Investigating the effect of carvacrol on physical, mechanical and antimicrobial properties of bio-hydrogel film based on filter flour obtained from wheat milling process

M. Mossavi, M. Kashiri*, Y. Maghsoudlou, M. Khomiri, M. Alami

Received: 2020.01.23
Accepted: 2020.11.11

Introduction: Hydrogels are a three-dimensional network of polymeric matrices with the ability to absorb water through chemical or physical cross-linking. Recently, the development of bio-based hydrogel with the aim of reducing the use of fossil fuel is becoming interested. Wheat filter flour (WFF) is a by-product obtained from air-classification in the modern wheat milling industry. It contains a high level of non-endosperm materials with the ability of water absorption and bio-film making capacity. Nevertheless, hydrogel-based films usually display weak water resistance, flexibility problems, and gas barrier properties. Carvacrol as a phenolic component is used to improve the functional properties of film and reduce the growth of pathogenic and spoilage microorganisms.

Materials and Methods: Hydrogel based films were prepared by casting technique. Six grams of WFF was added to 100 ml of distilled water, the pH of the solution was adjusted near to 10.7 with NaOH solution (1 N). The dispersion was heated up to 85°C, with gentle stirring at 250 rpm for 30 min.Glycerol (35 g/100g of dry polymer) was then added and stirred for another 15 min. Carvacrol, as an active agent incorporated at two concentrations (5 and 10% (g/100g of dry polymer)) and stirred for another 15 min at 40°C and dried in a forced-air oven at 35± 5°C for 24 h. Physical (density, water-solubility, moisture content), mechanical, barrier and antimicrobial properties of active hydrogel-based film were determined. Antimicrobial properties of active hydrogel-based were evaluated in the vapor phase by using the micro-atmosphere method and liquid medium (immersion in broth) as a food model system. Statistical analyses were performed on a completely randomized design with the analysis of variance procedure using SAS software.

Results and Discussion: Increasing the carvacrol concentration in the film making solution led to decreasing the water solubility, moisture content, and hydrophobicity properties of WFF based films. The SEM observations confirmed a porous structure of the active hydrogel-based film. The highest water vapor permeability (1.32×10^{-10} $gm^{-1}s^{-1}Pa^{-1}$) and the minimum water solubility (37.01± 0.63%) were observed in hydrogel film with 10% carvacrol. An increase in the concentration of carvacrol produced a greater growth inhibition zone for all microorganisms. The results in vapor phase showed that *A.niger* exhibited greater sensitivity to carvacrol than other studied bacteria. Hydrogel based films with 5% carvacrol in liquid food model system produced 1.16 and 1.34 log reduction against *E. coli* and *L. monocytogenes*, respectively. The greatest antibacterial activity was observed with films containing 10% carvacrol against *L. monocytogenes* (2.71 log reduction). This work suggested that the WFF hydrogel base film with 10% carvacrol can be used as an active packaging for improving the safety and shelf-life of food products.

Keywords: Wheat filter flour, Agro-industrial by-product, Carvacrol, Hydrogel, Antimicrobial packaging.

- Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
* Corresponding Author's Email: MKashiri@gau.ac.ir)